

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian dengan judul “Uji Homogenitas dan Stabilitas Plasma *Ethylenediaminetetraacetic Acid* (EDTA) Terhadap kadar Ureum” telah dilakukan pada tanggal 15 Februari – 15 Maret 2025. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan memperoleh Surat Kelayakan Etik No.DP.04.03/E-kepk.1/121/2025.

Penelitian ini menggunakan sampel darah vena yang diperoleh dari mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Sampel darah ditampung menggunakan tabung vacutainer EDTA dan didiamkan selama 1 jam untuk mengendapkan eritrosit. Darah yang telah didiamkan disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm dan dipisahkan bagian plasma ke dalam gelas kimia. Kumpulan plasma kemudian dirotator selama 10 menit dan dipisahkan kedalam vial masing masing 100 µl.

Pemeriksaan kadar ureum dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Pemeriksaan kadar ureum dilakukan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis Genesis dengan metode *Enzymatic Kinetic Analyzer*. Pemeriksaan tersebut dilakukan secara duplo sesuai dengan ISO 13528:2015.

1. Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh merupakan data primer dan berskala rasio, yaitu data hasil pemeriksaan kadar ureum plasma EDTA sebelum dan sesudah penyimpanan 1, 2, 3 dan 4 minggu. Jumlah data yang diperoleh sebelum dilakukan penyimpanan yaitu sebanyak 10 data untuk dilakukan uji homogenitas dan sebanyak 3 data untuk masing-masing uji stabilitas pada 1, 2, 3 dan 4 minggu. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan hasil pemeriksaan kadar ureum. Data yang digunakan meliputi jumlah rerata (mean), nilai tertinggi (maximum), nilai terendah (minimum), standar deviasi (SD) dan koefisien variansi (CV). Kadar ureum plasma EDTA sebelum dan sesudah penyimpanan ditunjukkan pada tabel berikut :

Tabel 4. Analisis Deskriptif Kadar Ureum (mg/dl) Plasma EDTA

		Kadar Ureum (mg/dl) plasma EDTA					
Perlakuan	N						
		(Duplo)	Nilai terendah	Nilai tertinggi	Rerata	SD	CV(%)
0 Minggu	10		14,5	17,2	15,8	0,99	6,28
1 Minggu	3		15,1	17	16,2	0,93	5,73
2 Minggu	3		15,2	17	16,3	0,73	4,47
3 Minggu	3		15,5	17,3	16,5	0,68	4,15
4 Minggu	3		16,7	17,6	17	0,48	2,82

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan CV (Coefisien Variansi) yang baik karena masih dibawah nilai maksimum CV pada parameter ureum. Menurut peraturan Menteri Kesehatan Tahun 2013, CV pada parameter pemeriksaan ureum yaitu sebesar 8%. CV merupakan nilai presisi yang menunjukkan seberapa dekat suatu hasil pemeriksaan apabila dilakukan secara berulang-ulang dengan sampel pemeriksaan yang sama. Semakin kecil nilai CV, maka semakin teliti sistem atau metode yang digunakan (Menkes, 2013).

2. Uji Homogenitas dan Uji Stabilitas

a. Uji Homogenitas

Data yang diperoleh merupakan data primer dan data berskala rasio, yaitu data hasil pemeriksaan uji homogenitas kadar ureum pada plasma EDTA sebelum penyimpanan (0 minggu). Sampel plasma EDTA dibagi menjadi 60 vial dan diambil 10 vial secara acak. Pengambilan sampel dilakukan dengan pengambilan acak sederhana dengan memilih sampel secara bebas, sehingga diperoleh vial dengan nomor 2, 11, 13, 16, 25, 29, 32, 36, 47 dan 53. Setiap sampel dilakukan pemeriksaan kadar ureum secara duplo.

Hasil pemeriksaan kadar ureum plasma EDTA ditunjukkan sebagai berikut :

Tabel 5. Data Uji Homogenitas dan Perhitungan Kadar Ureum

ΣX_t	157,727	$\Sigma X_t - X_r$	4,979	ΣW_t	17,355
X_r	15,773	S_x^2	0,553	S_w^2	0,868
		S_x	0,744	$\frac{S_w^2}{2} / 2$	0,434
				$S_x^2 - (\frac{S_w^2}{2} / 2)$	0,119
				S_s	0,346

Keterangan :

X_r : Rerata Kadar ureum siplo dan duplo (mg\dl)

X_r : Rerata total kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

W_t : Selisih Kadar ureum siplo dan duplo (mg\dl)

Σ : Total data

S_x : Standar Deviasi rata-rata sampel

S_w : Standar deviasi within sampel

S_s : Standar deviasi antar sampel

Tabel 6. Hasil CV Horwitz

CV Horwitz	2,640924117
$0,3\sigma$ ($0,3 \times$ CV Horwitz)	0,79228

Menurut ISO 13528 : 2015 sampel plasma EDTA dapat dinyatakan homogen jika $S_s \leq 0,3 \sigma$, dimana σ merupakan standar deviasi untuk assesmen profiensi (SDPA), σ ditetapkan melalui CV Horwitz dan telah diperoleh CV Horwitz = 2,640924117. Berdasarkan tabel hasil evaluasi data uji homogenitas kadar ureum diperoleh nilai $0,3\sigma = 0,79228$,

sehingga sampel *pooled* plasma EDTA dinyatakan homogen karena telah memenuhi syarat homogen yaitu $S_s \leq 0,3 \sigma$ yaitu $0,346 \leq 0,79228$.

b. Uji Stabilitas

Data yang diperoleh merupakan data primer dan data berskala rasio, yaitu data hasil pemeriksaan uji stabilitas kadar ureum pada plasma EDTA setelah penyimpanan (1, 2, 3 dan 4 minggu) pada suhu -20°C . Uji stabilitas diperlukan untuk mengetahui bahwa sampel tidak mengalami perubahan kadar secara signifikan. Uji stabilitas dilakukan dengan cara mengambil 3 vial secara acak. Ketiga vial kemudian dilakukan pemeriksaan secara duplo. Berikut merupakan hasil uji stabilitas kadar ureum plasma EDTA.

1) Uji Stabilitas kadar ureum plasma EDTA setelah penyimpanan 1 minggu

Tabel 7. Data Uji Stabilitas Kadar Ureum *Pooled* Plasma EDTA Setelah Penyimpanan 1 Minggu

No	Kode Vial	Kadar Ureum		Yt
		A	B	
1	19	17	16	16,5
2	17	15,1	17	15,6
3	40	17	15,1	16,2
			Yr	16,2

Keterangan :

A : Kadar ureum siplo (mg/dl)

B : Kadar ureum duplo (mg/dl)

Yt : Rerata kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Yr : Rerata total kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Menurut ISO 13528 : 2015 sampel *pooled* plasma EDTA dapat dinyatakan stabil jika $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$, dimana nilai $0,3\sigma = 0,79228$, sedangkan nilai $|X_r - Y_r| = 0,422$ dan diperoleh hasil $0,422 \leq 0,79228$. Sehingga sampel *pooled* plasma EDTA dinyatakan stabil setelah penyimpanan 1 minggu.

- 2) Uji stabilitas kadar ureum *pooled* plasma EDTA setelah penyimpanan 2 minggu

Tabel 8. Data Uji Stabilitas Kadar Ureum *Pooled* Plasma EDTA Setelah Penyimpanan 2 Minggu

Kode		Kadar Ureum		Yt
No	Vial	A	B	
1	8	16,1	16,1	16,1
2	26	17	15,2	16,1
3	30	17	17	17
			Yr	16,4

Keterangan :

A : Kadar ureum siplo (mg/dl)

B : Kadar ureum duplo (mg/dl)

Yt : Rerata kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Yr : Rerata total kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Menurut ISO 13528 : 2015 sampel *pooled* plasma EDTA dapat dinyatakan stabil jika $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$, dimana nilai $0,3\sigma = 0,79228$, sedangkan nilai $|X_r - Y_r| = 0,534$ dan diperoleh hasil $0,534 \leq 0,79228$. Sehingga sampel *pooled* plasma EDTA dinyatakan stabil setelah penyimpanan 2 minggu.

- 3) Uji stabilitas kadar ureum *pooled* plasma EDTA setelah penyimpanan 3 minggu

Tabel 9. Uji Stabilitas Kadar Ureum *Pooled* Plasma EDTA Setelah Penyimpanan 3 Minggu

Kode		Kadar Ureum		
No	Vial	A	B	Yt
1	8	17,3	16,4	16,8
2	26	15,5	17,3	16,4
3	30	16,4	16,4	16,4
			Yr	16,5

Keterangan :

A : Kadar ureum siplo (mg/dl)

B : Kadar ureum duplo (mg/dl)

Yt : Rerata kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Yr : Rerata total kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Menurut ISO 13528 : 2015 sampel *pooled* plasma EDTA dapat dinyatakan stabil jika $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$, dimana nilai $0,3\sigma = 0,79228$, sedangkan nilai $|X_r - Y_r| = 0,721$ dan diperoleh hasil $0,721 \leq 0,79228$. Sehingga sampel *pooled* plasma EDTA dinyatakan stabil setelah penyimpanan 3 minggu.

- 4) Uji stabilitas kadar ureum *pooled* plasma EDTA setelah penyimpanan 4 minggu

Tabel 10. Data Uji Stabilitas Kadar Ureum *Pooled* Plasma EDTA Setelah Penyimpanan 4 Minggu

Kode		Kadar Ureum		Y _t
No	Vial	A	B	
1	38	17,6	16,7	17,1
2	44	16,7	16,7	16,7
3	50	16,7	17,6	17,1
			Y _r	17

Keterangan :

A : Kadar ureum siplo (mg/dl)

B : Kadar ureum duplo (mg/dl)

Y_t : Rerata kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Y_r : Rerata total kadar ureum siplo dan duplo (mg/dl)

Menurut ISO 13528 : 2015 sampel *pooled* plasma EDTA dapat dinyatakan stabil jika $|X_r - Y_r| \leq 0,3 \sigma$, dimana nilai $0,3\sigma = 0,79228$, sedangkan nilai $|X_r - Y_r| = 1,158$ dan diperoleh hasil $1,158 \leq 0,79228$. Sehingga sampel *pooled* plasma EDTA dinyatakan tidak stabil setelah penyimpanan 4 minggu.

B. Pembahasan

Rerata kadar ureum yang terdapat pada tabel 4 menunjukkan adanya peningkatan. Peningkatan hasil kadar ureum dapat disebabkan karena adanya kontaminasi bakteri yang disebabkan oleh penyimpanan yang tidak aseptik. Bakteri yang hidup pada sampel dapat menghasilkan urease. Urease merupakan enzim yang mengkatalis hidrolisis urea menjadi ammonia dan karbonat. Protein makanan akan diuraikan menjadi asam amino, kemudian akan dipecah menjadi senyawa ammonia oleh bakteri sehingga akan mempengaruhi kadar ureum (Novianti dan Zulaika, 2018).

Faktor lain yang dapat memengaruhi hasil dapat berasal dari kebersihan alat yang digunakan, adanya gelembung udara pada sampel dan pencampuran sampel yang kurang sempurna. Pencampuran sampel dengan reagen yang tidak sempurna dapat menyebabkan reaksi kimia yang tidak optimal. Gelembung udara pada sampel dapat mengganggu volume sebenarnya dan dapat membiaskan cahaya yang dilewatkan oleh spektrofotometer. Hal ini dapat menyebabkan kesalahan dalam pengukuran sehingga hasil tidak akurat. WHO telah menekankan pentingnya prosedur operasional standar dalam laboratorium klinik dalam memastikan kuvet bebas dari gelembung udara sebelum pembacaan (WHO, 2010).

Hasil penelitian Cindara dkk (2019) dapat ditarik kesimpulan bahwa plasma EDTA pada pemeriksaan ALT stabil selama 13 hari dengan suhu penyimpanan 2-8°C. Namun, pada penelitian yang dilakukan menggunakan pemeriksaan lain yaitu ureum dengan hasil dapat stabil selama 3 minggu

pada suhu -20°C . Sehingga penelitian yang dilakukan tidak sesuai dengan penelitian tersebut, karena ada pengaruh lama penyimpanan dan suhu penyimpanan yang digunakan yaitu -20°C .

Menurut Natsir (2023) secara kimiawi, ureum merupakan produk akhir metabolisme protein dan tidak reaktif terhadap antikoagulan, seperti EDTA. EDTA bekerja dengan cara mengikat ion kalsium untuk mencegah koagulasi, namun tidak ada keterkaitan terhadap pembentukan ureum. Oleh karena itu, penggunaan EDTA sebagai antikoagulan tidak secara langsung mempengaruhi kadar ureum dalam sampel plasma.

Penambahan stabilisator atau pengawet disarankan untuk digunakan dalam pembuatan bahan kontrol. Menurut World Health Organization (WHO), penambahan pengawet etilen glikol pada pembuatan bahan kontrol *pooled* sera dianjurkan. Etilen glikol dianjurkan karena memiliki sifat anti beku dan anti bakteri sehingga berpengaruh terhadap stabilitas bahan kontrol. Selain itu, penambahan pengawet lain seperti Natrium azida merupakan pengawet yang sering digunakan dalam pengawetan pada serum. Natrium azida digunakan karena memiliki sifat anti bakteri, tidak berbau dan tidak berwarna (Suci dkk, 2019).

Hingga saat ini, belum ditemukan penelitian yang secara spesifik membahas stabilitas ureum pada plasma EDTA. Oleh karena itu, temuan dalam studi dapat menjadi kontribusi awal yang penting dalam memahami pengaruh jenis sampel terhadap pemeriksaan ureum. Mengingat keterbatasan literatur mengenai hal ini, penelitian lebih lanjut diperlukan

untuk mengonfirmasi stabilitas plasma EDTA pada pemeriksaan ureum dalam kondisi penyimpanan yang lebih baik dan waktu penyimpanan yang lebih panjang.

Kendala dalam penelitian ini yaitu lama pendiaman sampel yang mana sesuai prosedur seharusnya 1 jam menjadi 3 jam, hal ini disebabkan karena probandus datang tidak serentak yang menyebabkan pengambilan sampel berjalan dengan lambat dan lama sehingga mempengaruhi lama pendiaman sampel. Selain itu, keterbatasan waktu peneliti yang bersamaan dengan jadwal kegiatan lain sehingga mengharuskan penelitian dilakukan selama 1 bulan yang seharusnya dilakukan selama 3 bulan sebagai syarat bahan kontrol.